



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**LA RUTA DE CRECIMIENTO DE HGF Y SU  
RECEPTOR C-MET COMO DIANA  
TERAPÉUTICA PARA EL DESARROLLO DE  
FÁRMACOS**

Autor: Jorge Solís Olivares

Tutora: Aránzazu Sánchez Muñoz

Convocatoria: Junio 2017

## INDICE:

1. Resumen .....	3
2. Introducción y antecedentes .....	3
2.1. Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) .....	3
2.2. Receptor MET .....	4
2.3. HGF/MET y su papel en regeneración de tejidos .....	5
2.4.HGF/MET y cáncer .....	6
3. Objetivos.....	8
4. Metodología.....	8
5. Resultados y discusión .....	8
5.1. Inhibidores de HGF y MET para la terapia del cáncer. ....	8
5.2 Terapia frente a la vía HGF/MET en tumores sólidos para superar la resistencia a fármacos .....	13
5.3. Biomarcadores.....	16
6. Conclusiones.....	18
7. Bibliografía.....	19

## 1. Resumen

La activación de la vía HGF/MET produce respuestas biológicas dinámicas tales como acciones morfogénicas, angiogénicas, mitogénicas, motogénicas y antiapoptóticas. Gracias a estas acciones desempeña un papel importante en la regeneración, protección y homeostasis en diversos tejidos. Esta vía también está implicada, tras su alteración, en la iniciación del cáncer, su progresión, agresividad oncológica, metástasis y resistencia a terapias. Como consecuencia de estas dos vertientes, la vía HGF/MET es una diana terapéutica importante actualmente en estudio, en el primero de los casos para fomentar la acción regenerativa en daños tisulares y en el segundo caso para mejorar la clínica oncológica en combinación con otros fármacos para reducir la posibilidad de resistencia a terapias dirigidas.

## 2. Introducción y antecedentes

### 2.1. Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)

El factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), se identificó en 1984 como una glicoproteína con gran actividad mitogénica en cultivos primarios de hepatocitos (1). Pertenece a la familia de factores de crecimiento relacionados con el plasminógeno (PRGFs). El gen que codifica para HGF se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 7. (1). Es sintetizado como forma inactiva formada por una cadena sencilla polipeptídica (pro-HGF) de 728 aminoácidos. Tras sufrir un corte proteolítico (Arg494 y Val495) en su estructura por serín proteasas específicas da como resultado la forma madura del HGF de 495 aminoácidos (1, 2). El producto activo es una molécula heterodimérica con dos cadenas: una cadena  $\alpha$  y una cadena  $\beta$  unidas entre sí por puentes disulfuro. La cadena  $\alpha$  de 69Kda, contiene un dominio en forma de horquilla (hair-pin) en su extremo N-terminal y 4 dominios tipo *kringle*. La cadena  $\beta$  de 34 KDa, posee un dominio semejante a serín proteasas pero sin actividad enzimática. (1 - 2).

El HGF es sintetizado por fibroblastos y células mesenquimales de diferentes órganos en cantidades considerables tanto durante el desarrollo como en la fase adulta. Sin embargo, el HGF ejerce su acción principalmente en las células epiteliales ya que es en estas células en las cuales hay una mayor cantidad de receptor.

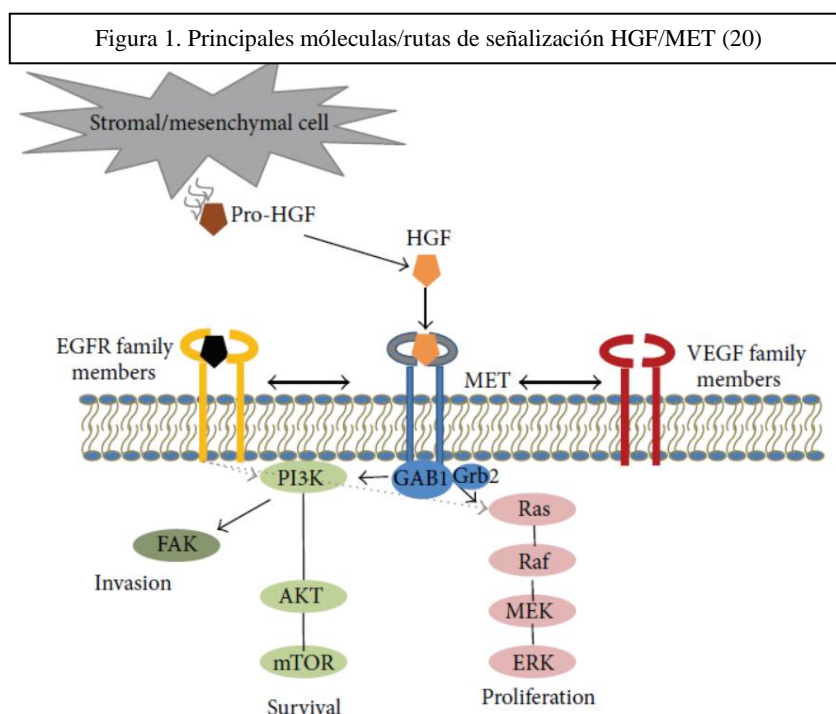
## 2.2. Receptor MET

El receptor MET es un receptor transmembrana de tipo tirosina quinasa. Identificado por primera en su forma mutada en líneas celulares humanas de osteosarcoma. Pertenece a la familia de los receptores tirosina quinasa heterodiméricas (3). Se expresa en células epiteliales de prácticamente todos los tejidos y su expresión es inducida por múltiples factores entre ellos el propio HGF, EGF (epidermal growth factor), IL-1 (interleucina 1), IL-6 (interleucina 6), TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral alfa), estrógenos, progesterona, tamoxifeno y la dexametasona (3). Es sintetizado como un polipéptido sencillo que tras sufrir glicosilación parcial y un corte proteolítico, genera un heterodímero de dos subunidades unidas por puentes disulfuro: una cadena  $\alpha$  de 50

kDa extracelular altamente glicosilada, y una cadena  $\beta$  de 145 kDa con región extracelular, transmembrana y una región citoplasmática con actividad tirosina quinasa, encargada de la fosforilación y señalización. (1, 3).

Después de la unión de HGF a su receptor

MET se produce la homodimerización y con ello la fosforilación cruzada en sus residuos de tirosina Y1234 e Y1235, entre los monómeros de c-MET. A continuación, se fosforilan las tirosinas Y1349 y Y1356 en el dominio de anclaje C-terminal, que actuarán como puntos de anclaje para el reclutamiento y activación de proteínas adaptadoras y transductoras de la señal, tales como GRB2 (*Growth factor receptor-bound protein 2*) y GAB1 (*Grb-2-associated binding protein 1*) (2). La activación de MET puede desencadenar múltiples respuestas celulares, que incluyen la proliferación celular, supervivencia, motilidad, invasión, angiogénesis y morfogénesis. La unión de GAB-1 a MET, a través de GRB2 conduce principalmente a la activación de las vías de la PI3K (*phosphatidylinositol (3,4,5)-Trisphosphate*) / AKT (*AK strain Transforming*; v-



*akt murine thymoma viral oncogene homolog 1*) y ERK/MAPKs (*Mitogen Activated Protein Kinases*) (1 - 4). Estas son algunas de las principales rutas bioquímicas que se activan por MET, pero la vía de señalización es mucho mas compleja.

MET estimula el reclutamiento de GRB2 a GAB-1, lo que conduce a la activación de la ruta MAPK/ERK, la cual es responsable de la proliferación celular, la progresión del ciclo celular, la motilidad celular, así como la migración celular e invasión (4).

La subunidad p85 de PI3K puede unirse a MET directamente y señalizar a través de AKT, estimulando la supervivencia celular (4). En este sentido, la activación de MET induce fosforilación de PI3K y AKT, y la fosforilación de BAD (*Bcl-2-associated death promoter*) inducida por AKT inhibe la actividad pro-apoptótica de BAD. En paralelo, HGF aumenta la expresión de la proteína anti-apoptótica BCL-XL. Además, la unión de HGF a MET evita la asociación funcional entre el receptor de muerte FAS y FAS-ligando (que induce la apoptosis). (5)

### **2.3. HGF/MET y su papel en regeneración de tejidos**

El HGF participa como un factor organotrófico en la regeneración y protección de tejidos como el hígado, pulmón, riñón, estómago, páncreas, corazón, cerebro, etc. Puede actuar de manera autocrina, paracrina o bien endocrina. Además, participa en el desarrollo embrionario de hígado, riñón, pulmón, glándula mamaria, músculo y tejido neuronal (1). La alteración específica de tejido del receptor MET funcional en ratones indicó que el HGF desempeña un papel promotor en la regeneración, protección y homeostasis de los tejidos, y un papel inhibidor en la progresión de la inflamación crónica y la fibrosis (1). Los ratones knockout generales (en todo el organismo) del gen de HGF o de MET muestran letalidad durante la etapa embrionaria debido a una organogénesis deteriorada de la placenta y el hígado (5). Debido a la diversidad de funciones del HGF se ha utilizado terapéuticamente a nivel experimental en patologías de diferentes órganos (1). La proteína HGF recombinante y sus vectores de expresión para el gen de HGF son los candidatos para el desarrollo de fármacos biológicos para enfermedades y lesiones asociadas a función tisular alterada. En ensayos clínicos de fase I y II la administración intravenosa de HGF recombinante ha sido bien tolerada (2). La promoción de la supervivencia es una acción biológica clave de la vía HGF-MET en el desarrollo, la regeneración y la acción terapéutica.

Los papeles definitivos de la vía HGF-MET en la protección y reparación tisular se han demostrado utilizando modelos de ratón knockout condicional del gen MET. Así, los hepatocitos sometidos a la pérdida selectiva del MET funcional fueron altamente susceptibles a la muerte celular incluso después de una lesión hepática leve. Los ratones MET - / - específicos del hígado mostraron retraso de la regeneración hepática asociada con la reacción inflamatoria persistente (5). Los hígados con hepatocitos MET - / - en ratones fueron más susceptibles a la inflamación crónica y el desarrollo de fibrosis en comparación con los ratones control.

Por otra parte, la pérdida de MET funcional en los túbulos renales no causó un defecto apreciable en la función renal (5). Sin embargo, cuando los ratones fueron sometidos a lesión renal, los ratones MET - / - específicos de células tubulares mostraron mayor creatinina sérica, mayor severidad en las lesiones morfológicas y un aumento en la apoptosis en comparación con los ratones control.

En la misma línea, la interrupción del gen MET en queratinocitos epidérmicos demostró un papel indispensable de HGF/MET en la cicatrización de heridas de piel (5); y la delección selectiva de MET en las células  $\beta$  pancreáticas mostraron una disminución significativa de la tolerancia a la glucosa y la reducción de la insulina plasmática (5).

Es importante destacar que la lesión tisular crónica y la inflamación se han asociado con el inicio de la fibrosis (5). No ha habido ningún medicamento eficaz para el tratamiento de enfermedades fibróticas crónicas, mientras que el tratamiento con HGF ha sido eficaz para reducir la fibrosis y mejorar la función tisular en modelos de enfermedad, incluyendo cirrosis hepática, enfermedad renal crónica, miocardiopatía dilatada y fibrosis pulmonar.

#### **2.4.HGF/MET y cáncer**

La angiogénesis en tumores es impulsada por múltiples factores de crecimiento que activan los receptores tirosina quinasas. Uno de los más importantes desde el punto de vista de la angiogénesis es el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y sus receptores (VEGFRs). Los inhibidores de la angiogénesis que se dirigen a esta vía de señalización están ahora en uso generalizado para el tratamiento del cáncer (bevacizumab, sunitinib, sorafenib, etc.) causando la regresión de vasos tumorales que

dependen del VEGF como factor de supervivencia. Sin embargo, cuando se usan solos, los inhibidores VEGF/VEGFR no destruyen todos los vasos y no ralentizan el crecimiento de la mayoría de los cánceres. Es por esta razón que se suelen utilizar en combinación con otras terapias. Una de las vías prometedoras en este sentido es la vía HGF/MET, que también juega un papel en la angiogénesis y el crecimiento tumoral (6).

HGF y VEGF actúan sinérgicamente en células endoteliales y en muchos cánceres humanos su expresión se ve fuertemente aumentada. La activación o la regulación positiva de MET es un indicador de pronóstico negativo en pacientes con diversos carcinomas, mieloma múltiple o glioma (6). Está implicado en la regulación de múltiples vías de transducción de señales biológicas normales y patológicas, contribuyendo a la iniciación del cáncer, su progresión y agresividad, a la metástasis y a la resistencia a terapias (8). Por estas razones, varios inhibidores de la vía de señalización HGF/MET están siendo estudiados y desarrollados como terapias potentes adicionales para inhibir la angiogénesis y el crecimiento tumoral. (6).

En un estudio realizado en una cohorte de 1.115 pacientes con cánceres sólidos avanzados se encontró una amplificación de MET en el 2,5% de los cánceres. La prevalencia fue mayor en carcinomas de células renales (RCC, 14%), seguida de tumores adrenocorticales (15%), gastroesofágicos (6%), de mama (5%) y ováricos (4%) (8). Además, actualmente la activación de la vía HGF/MET se ha conseguido observar en una amplia gama de cánceres y su presencia se encuentra asociada como se comentaba antes a un aumento de la agresividad oncogénica, mal pronóstico, metástasis y una posible resistencia a los tratamientos en diferentes tipos de tumores. (6 - 8)

Se han encontrado diferentes alteraciones moleculares responsables de la activación de MET en tumores humanos: mutaciones puntuales, amplificaciones génicas, incremento de la transcripción, activación autocrina. En carcinoma hepatocelular (CHC), la activación principal de la señalización de MET es por la unión de ligandos o de su sobreexpresión. (8)

La ventaja conferida por la activación de la vía MET a las células neoplásicas durante la progresión del tumor se ha relacionado principalmente con su mayor capacidad de desagregación de las células tumorales circundantes, de destruir las membranas basales y aumentar la motilidad celular y el potencial metastásico. Esta vía es responsable de la

descomposición de la matriz extracelular por activación de proteasas lo que, a su vez, facilita la capacidad de invasión de las células cancerosas (10).

### 3. Objetivos

Los objetivos de este trabajo son proporcionar una visión general y actualizada de la relevancia de la vía HGF/MET en oncología, haciendo particular énfasis en las estrategias terapéuticas antitumorales en estudio encaminadas a obtener nuevos fármacos dirigidos a esta vía con el fin de inhibir la progresión del proceso tumoral y mejorar la calidad de vida de los pacientes. A pesar de que sería interesante el desarrollo de la vía implicada en la regeneración tisular hemos centrado la revisión solo en el cáncer por el limitado espacio de la memoria, ya que además esta vertiente es la que mas desarrollada está a nivel de investigación en la actualidad.

### 4. Metodología

Se realizó una búsqueda bibliográfica específicamente enfocada al principal objetivo del trabajo. Esta revisión se basó en diferentes publicaciones científicas enfocadas al tema, obtenidas de distintas bases de datos como PubMed y Google académico. El material se restringió a aquel disponible de forma gratuita y que hubieran sido publicados entre los años 2010 y 2017, cuyo idioma fuera inglés o español.

### 5. Resultados y discusión

#### **5.1. Inhibidores de HGF y MET para la terapia del cáncer.**

La inhibición de la vía HGF/MET es una de las nuevas estrategias prometedoras para el tratamiento en oncología y se está llevando a cabo una gran investigación en el desarrollo de fármacos que actúan a diferentes niveles de la vía (7). Pueden clasificarse según la diana a la que vayan dirigidos, pudiendo ser el HGF o el receptor MET. Los agentes que se dirigen al ligando pueden categorizarse a su vez en inhibidores de la activación de HGF (que previenen la escisión de pro-HGF en la forma activa) o inhibidores de HGF (bloqueando la unión directa de HGF al receptor MET). Dentro de los que actúan sobre el receptor MET se encuentran los antagonistas del receptor (uniéndose al mismo) y los inhibidores de la tirosina quinasa (dirigidos



intracelularmente). Tanto los agentes frente a HGF como los dirigidos hacia MET pueden clasificarse como anticuerpos monoclonales y moléculas pequeñas; y difieren en términos de propiedades farmacológicas, así como su mecanismo de acción subyacente (7). La mayoría de los inhibidores

de HGF y MET mostraron resultados prometedores cuando se usaron en combinaciones de fármacos, muy probablemente debido a la complejidad de la biología de los tumores. En cuanto a los efectos secundarios, los inhibidores de HGF y MET han demostrado pocos efectos adversos cuando se administran a pacientes y cualquier tratamiento combinado ha sido bien tolerado. Los efectos adversos más frecuentes observados en los ensayos clínicos de fase II y III incluyeron fatiga, anorexia, náuseas, vómitos, fiebre, reacciones de hipersensibilidad, edema periférico, proteinuria, hematuria, hipertensión y sangrado.

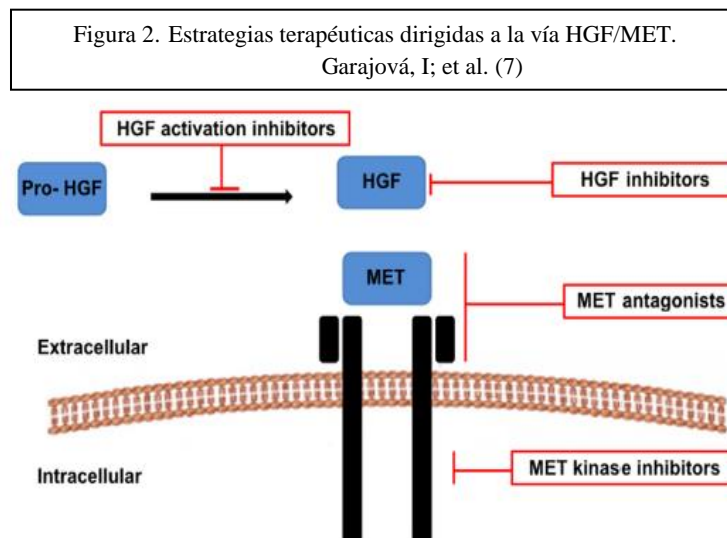


Tabla 1. Fármacos dirigidos a la vía HGF/MET. Versión modificada de Garajová, I; et al. (7).

	DRUGS	MOLECULAR TARGETS
<b>HGF activation inhibitors</b>	SRI 31215	Pro-HGF
<b>HGF inhibitors</b>	Rilotumumab (AMG 102)	HGF
	Ficlatuzumab (AV-299)	HGF
	TAK701	HGF
<b>MET antagonists</b>	Onartuzumab	MET
	Emibetuzumab (Ly2875358)	MET
<b>MET kinase inhibitors</b>		
	Selective	
	Tivantinib	MET
	Savolitinib	MET
	INC 280	MET
	Non selective	
	Crizotinib	MET, ALK, ROS, RON
	Carbozantinib	MET, VEGFR2, KIT, RET, AXL, FLT3

**Inhibición de la activación de HGF.** La activación de HGF a partir de su precursor inactivo pro-HGF es un paso crítico en la función de HGF y depende del equilibrio entre el activador de HGF (HGFA) y los inhibidores de HGFA (HAI). Hu et al. (11)

investigaron el papel de HAI-1 en pacientes con cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata. Se observó que los pacientes con cáncer más benigno presentaban un alto nivel de proteína HAI-1 en comparación con aquellos que tenían un tipo de cáncer de próstata mas agresivo. Existía también una correlación entre niveles bajos de HAI-1 y un alto estadio de Gleason (estadio patológico más avanzado) y fue un marcador de mal pronóstico. Por lo tanto, niveles de HAI-1 alto podría ser utilizado como un marcador pronóstico favorable para el cáncer de próstata.

SRI 31215 es una pequeña molécula que actúa como inhibidor de HGFA, imitando la actividad de HAI-1. Por ello inhibe el paso de proHGF a HGF. Supera la resistencia primaria a cetuximab y gefitinib en las células del cáncer de colon productoras de HGF y previene la resistencia inducida por los inhibidores de EGFR (19).

**Inhibición de la unión de HGF.** Los inhibidores de HGF se unen a HGF y bloquean la unión al receptor MET. Son anticuerpos monoclonales y varios de ellos se han probado preclínicamente, tales como rilotumumab, ficlatuzumab y TAK701. (7)

Rilotumumab es un anticuerpo monoclonal IgG2 totalmente humanizado. Los datos preclínicos mostraron citotoxicidad en combinación con temozolomida y docetaxel. La eficacia del rilotumumab se evaluó en un estudio de fase II en pacientes afectados por tumores de unión gastroesofágica. Curiosamente, solo se observó una mejoría en la supervivencia libre de progresión (PFS) media y la supervivencia global (OS) en pacientes tratados con rilotumumab más capecitabina entre los pacientes con sobreexpresión de MET, lo que subraya la creciente importancia de estratificar a los pacientes para el tratamiento diana (7). En otro ensayo de fase II se evaluó la eficacia del rilotumumab en combinación con erlotinib en NSCLC (*Non small celular lung cancer*) metastásico que había sido tratado ya previamente. La PFS media fue de 2,6 meses y la OS media fue de 7 meses, cumpliendo los criterios preestablecidos (18).

Ficlatuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado anti-HGF IgG1 que se evaluó en un estudio de fase I en tumores sólidos como un solo agente o en combinación con erlotinib (7). Un ensayo de fase II en pacientes asiáticos no tratados con NSCLC en combinación con gefitinib no alcanzó el criterio de valoración primario de la tasa de respuesta global (9). Se está realizando un estudio de fase II de ficlatuzumab y erlotinib frente a placebo y erlotinib para evaluar el valor de la inhibición combinada en pacientes con NSCLC avanzado con EGFR-mutado.(10)

TAK701 es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra HGF. El tratamiento junto con gefitinib es una estrategia prometedora para superar la resistencia a inhibidores de la actividad tirosina quinasa del EGFR inducida por HGF en NSCLC. (7).

**Antagonistas de MET.** Los antagonistas de MET compiten con HGF por la unión a MET, dando como resultado la degradación de MET y posterior inactivación.

En la práctica clínica, el onartuzumab (un anticuerpo monoclonal monovalente humanizado específico para un epítipo en el dominio de unión al HGF del receptor MET) (9) mostró beneficios significativos de supervivencia en combinación con Erlotinib en pacientes con NSCLC con sobreexpresión de MET en un estudio aleatorizado de fase II. Mientras que su tratamiento con solo uno de los dos fármacos mostró resultados de inhibición mínimos. (7). Onartuzumab se está probando actualmente en un ensayo de fase III para pacientes con NSCLC avanzado positivos para MET y en ensayos de fase II y III en pacientes con cáncer gástrico avanzado HER2-negativo, MET-positivo (9).

Emibetuzumab (LY2875358) es otro agente relevante que se está desarrollando en este campo, un anticuerpo monoclonal humanizado, bivalente, IgG4. Bloquea de manera potente la unión de HGF, la fosforilación de MET y la proliferación celular mediada por MET. Además, induce la internalización y degradación del receptor MET, mostrando actividad tanto en sistemas modelo dependientes de HGF como independientes de HGF. (10). Los estudios iniciales demostraron buena tolerabilidad. Un estudio aleatorizado de fase II evaluó emibetuzumab solo o combinado con erlotinib en pacientes con NSCLC con EGFR resistente tras haber recibido una terapia previa EGFR TKI. Los resultados presentados sugieren una actividad limitada de la terapia con anticuerpos anti-MET en monoterapia o terapia combinada para la población total de pacientes diagnosticados como MET-positivo. (10)

**Inhibidores de la actividad quinasa de MET.** Otro método para inhibir la vía MET es a través de los inhibidores de la actividad quinasa de MET que se dirigen a la región intracelular del receptor. Varios inhibidores de la quinasa MET de tipo pequeña molécula han entrado en desarrollo clínico, incluyendo inhibidores selectivos, tales como tivantinib, savolitinib, INC 280 e inhibidores no selectivos como Crizotinib, cabozantinib y foretinib. (7).

Tivantinib (7, 8) es un inhibidor selectivo de la actividad tirosina quinasa de MET. El tratamiento combinado con sorafenib se consideró que tenía un potencial terapéutico de tratamiento en una variedad de tumores sólidos, tras evidenciar en estudios de fase I actividad anticancerígena en pacientes con cáncer renal, cáncer hepatocelular y melanoma, incluidos pacientes refractarios al sorafenib. La combinación de tivantinib más erlotinib se ha investigado en un ensayo de fase III para el tratamiento de pacientes con NSCLC avanzado o metastásico, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas en comparación con el tratamiento con erlotinib solo (7, 9, 10). En cambio, en carcinoma hepatocelular la monoterapia con tivantinib sí que mostró mejoría significativa (7). Se inició un ensayo de fase III, aleatorizado, controlado con placebo, para evaluar la eficacia de tivantinib en pacientes con CHC de MET con alta expresión para los que había fracasado el tratamiento con sorafenib (8). La confirmación de que los pacientes con CHC con alta expresión de MET tratados con tivantinib tienen un mejor resultado que aquellos con baja expresión de MET podría ofrecer la base para el primer intento de terapia personalizada en pacientes CHC seleccionados en base a su perfil molecular.

Savolitinib (8) es un inhibidor novedoso y selectivo del MET. En estudios preclínicos, el savolitinib mostró actividad *in vitro* contra MET y sus dianas de señalización. *In vivo*, el savolitinib indujo actividad antitumoral, particularmente en modelos tumorales con alta amplificación del gen MET, especialmente en carcinoma de células renales papilares (PRCC), consiguiéndose regresión del tumor en comparación con sunitinib y crizotinib que dieron como resultado inhibición del crecimiento no sostenida (14).

Crizotinib (7) es una pequeña molécula inhibidora de la quinasa del linfoma aplásico (ALK) (aunque se desarrolló originalmente como un inhibidor específico de MET) con actividad adicional contra los receptores MET, ROS y RON. Crizotinib fue aprobado para su uso en NSCLC avanzado positivo para ALK tanto como tratamiento de primera línea como para los pacientes tratados previamente con otros fármacos.

Cabozantinib es una pequeña molécula inhibidora de MET, VEGFR2, KIT y RET y está aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer de tiroides medular metastásico progresivo. Actualmente, se están realizando ensayos de fase III múltiple en una variedad de tumores sólidos.

INC280 (4) es un inhibidor de la quinasa de MET potente y altamente selectivo que se está evaluando actualmente en estudios clínicos. INC280 inhibió la proliferación celular, la migración y la apoptosis en líneas de células tumorales potenciadas por MET. INC280 suprimió el crecimiento tumoral *in vivo*, y fue extremadamente bien tolerado, especialmente en modelos de xenoinjerto de ratón. Un estudio clínico de fase I mostró enfermedad estable en el 24% (8/33) de los pacientes con tumores sólidos avanzados potenciados por MET. INC280 mostró una eficacia antitumoral preliminar como agente único en el 50% de los pacientes con NSCLC con EGFR tipo salvaje con desregulación de MET.

## **5.2 Terapia frente a la vía HGF/MET en tumores sólidos para superar la resistencia a fármacos**

Para una terapia diana dada, los tumores que no responden al tratamiento inicial se definen como tumores que tienen resistencia primaria. Del subconjunto de tumores que responden al tratamiento inicial, se dice que los tumores que finalmente dejan de responder a terapia dirigida han adquirido resistencia (10).

La resistencia a la terapia dirigida es una cuestión clave que limita la utilidad a largo plazo de estos medicamentos en el manejo de subgrupos molecularmente seleccionados de pacientes con cáncer (10). Además de su papel como conductor oncogénico, la evidencia creciente implica MET como un mecanismo común de resistencia a terapias dirigidas incluyendo los inhibidores de EGFR y VEGFR aprobados. Además, el MET está implicado en la resistencia a terapias anti-HER2 (trastuzumab).

### **HGF/MET como diana en NSCLC para superar la resistencia a los medicamentos.**

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte relacionada con el cáncer tanto para hombres como para mujeres en todo el mundo (7). Los oncogenes mutados o reordenados más prevalentes identificados en NSCLC son KRAS, EGFR y ALK. Este conocimiento llevó a la introducción de terapias dirigidas llevando a la mejora del resultado de los pacientes con NSCLC, concretamente erlotinib, gefitinib para pacientes con NSCLC y mutaciones en el dominio TK (tirosina quinasa) de EGFR y crizotinib para NSCLC con alteraciones ALK.

Sin embargo, muchos pacientes adquieren resistencia al tratamiento anti-EGFR después de 6-12 meses. La resistencia adquirida a TKIs (inhibidores de TK) de EGFR puede ocurrir como resultado de mutaciones secundarias de EGFR o activación paralela de vías de señalización, incluyendo MET. Aproximadamente el 5% -22% de los pacientes con NSCLC con resistencia secundaria a los TKI de EGFR tenían evidencia de amplificación del oncogén MET. La terapia de cáncer de pulmón con TKI de EGFR conduce a la amplificación de MET que posteriormente activa la señalización PI3K-AKT. De esta manera, la señalización de MET puede compensar la inhibición del EGFR. La resistencia puede prevenirse mediante la inhibición combinada de EGFR y MET, como se ha demostrado en los xenoinjertos de tumores de pulmón humanos (15).

Otro tipo de terapia dirigida frente a MET disponible en la práctica clínica es el crizotinib, el primer inhibidor clínicamente disponible en el mundo para ALK en pacientes con NSCLC que presentan reordenación del gen de ALK. Kogita et al (16) investigaron el papel de la señalización de MET en el NSCLC positivo para ALK, demostrando la resistencia mediada por HGF a alectinib (inhibidor selectivo de ALK), pero no a crizotinib. Se observó que alectinib activó la señal de MET incluso en ausencia de HGF y que la inhibición de la señal de MET aumentó la eficacia de alectinib. Además, la expresión de MET aumentó significativamente en NSCLC reordenado con ALK. Sin embargo hay una forma de resistencia al crizotinib que eventualmente se desarrolló debido a mutaciones adquiridas. El cabozantinib se identificó como una estrategia terapéutica potencial para superar esta forma de resistencia al crizotinib (7).

### **HGF/MET como diana en cáncer renal para superar la resistencia a los fármacos.**

El tratamiento de primera línea de los pacientes afectados por RCC incluye varios agentes anti-VEGF (sunitinib, pazopanib y bevacizumab). Inevitablemente, la enfermedad progresa tras un período transitorio de 9-11 meses de beneficio clínico. Ahora está bien establecido que las vías de MET contribuyen a la vascularización y progresión tumoral inducidas por VEGFR, pero también está implicada en la resistencia a los tratamientos anti-VEGFR. Los estudios de expresión génica que compararon el glioblastoma primario con los tumores tratados con bevacizumab revelaron a MET como uno de los genes más regulados positivamente. Por lo tanto, la activación de MET está implicada en la regulación positiva de vías alternativas que ayudan a evadir la inhibición de VEGFR (7).

Ciamporcero et al. (13) evaluaron los efectos de la monoterapia o terapia combinada dirigida a las vías de VEGF (axitinib) y MET (crizotinib) en los modelos de carcinoma renal. Probaron estos fármacos en un xenoinjerto derivado de un carcinoma renal humano, tanto en modelos sensibles como resistentes a sunitinib. La terapia de combinación aumentó el efecto antitumoral de ambos fármacos, independientemente de la expresión de MET. Se concluyó que los ensayos clínicos de un bloqueo combinado de vía VEGF y HGF/MET podrían mejorar el resultado de los pacientes afectados por RCC (Carcinoma renal).

**HGF-MET como diana en el adenocarcinoma ductal pancreático para superar la resistencia.** El adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) es una enfermedad maligna muy agresiva y la cuarta causa de muerte relacionada con el cáncer en los países desarrollados (7). La supervivencia media después del diagnóstico es de 2-8 meses y sólo 3-6% de todos los pacientes con PDAC sobreviven 5 años después del diagnóstico. Los síntomas no son muy claros en las primeras etapas, el 80% de los PDAC se diagnostican cuando ya están avanzados y no hay terapia curativa disponible. La quimioterapia prolonga la vida en sólo unos pocos meses, y la quimio resistencia de PDAC hace que la mayoría de los fármacos sean ineficaces. En la actualidad existen tres opciones terapéuticas diferentes para PDAC en el contexto metastásico, monoterapia con gemcitabina, gemcitabina en combinación con nab-paclitaxel o la combinación de 5-FU, leucovorina, irinotecán y Oxaliplatino.

MET ha sido asociado con la agresividad de PDAC, el comportamiento metastásico y la resistencia intrínseca a la quimioterapia. El estroma es la fuente predominante de HGF, lo que sugiere que la activación de MET es en parte por acción paracrina. Curiosamente, se ha demostrado que el HGF no sólo incrementa la producción de VEGF si no que ambos actúan sinérgicamente para inducir la formación de conductos endoteliales y proliferación. La inhibición de HGF podría representar un enfoque antiangiogénico potencialmente útil en PDAC.

**HGF-MET en otros tumores.** Para el cáncer de tiroides medular metastásico, el cabozantinib está aprobado por la FDA. La vía MET está frecuentemente activada en cáncer colorrectal, cáncer esofagogástrico, carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, sarcomas y varios estudios han mostrado actividad prometedora de fármacos dirigidos a HGF-MET en estos tipos de tumores. Además, el eje HGF-MET como diana abre



nuevas posibilidades terapéuticas para los cánceres líquidos. Por ejemplo, la expresión de HGF es crítica en la patogénesis de la leucemia mieloide aguda (AML). Kentsis et al. (17) demostraron que las células leucémicas tratadas con crizotinib pueden desarrollar resistencia debido a la regulación compensatoria de la expresión de HGF, lo que conduce a la restauración de la señalización de HGF.

### **5.3. Biomarcadores**

Actualmente no existe un método óptimo o estandarizado para la evaluación precisa y fiable de los niveles de MET, u otros biomarcadores que son predictivos de la respuesta del paciente a la terapia frente a MET (4). Entre los posibles biomarcadores predictivos que se están evaluando los niveles de HGF y MET en circulación, la sobreexpresión de la proteína MET, así como la amplificación y mutación del gen MET (7). Los datos de pacientes en estos estudios indican la necesidad de biomarcadores predictivos para identificar a los pacientes más propensos a beneficiarse de estas terapias (9).

**HGF circulante y MET (7).** Se ha observado una expresión local aumentada y / o aberrante del HGF ocasionalmente en neoplasias. El HGF representa el único ligando conocido para MET (9). Aunque el aumento de los niveles locales de HGF podría conducir a la activación mejorada de la vía de señalización MET, estos datos deben ser interpretados con cautela. Los reactivos para evaluar los niveles intratumorales de proteína HGF no se han validado con respecto a la sensibilidad y especificidad, y no queda claro cómo los niveles sistémicos de HGF en el suero se relacionan con los niveles de HGF en el microambiente tumoral (9). De hecho, elevados niveles circulantes de HGF se puede observar en muchos entornos, incluyendo infecciones virales o bacterianas y tras los procedimientos quirúrgicos. El tratamiento con inhibidores de HGF (ficlatuzumab y rilotumumab) puede resultar en un aumento del HGF total plasmático y de las concentraciones basales de MET.

**Sobreexpresión de la proteína MET (7).** Altos niveles de expresión de proteína MET en tejidos tumorales pueden estar asociados con un mal pronóstico en algunos tipos de cáncer. En un ensayo de fase II con pacientes que tenían una expresión positiva de MET en tejidos tumorales, se encontró una supervivencia más larga en pacientes que recibieron el inhibidor de HGF rilotumumab más ECX (epirubicina, cisplatino, capecitabina) que los pacientes que recibieron ECX solo. La sobreexpresión de MET se detectó *in vivo* en el 9,6 al 71% de los carcinomas gástrico. De forma similar, la



sobreexpresión de MET varió de 20 a 100% en CHC en comparación con el tejido hepático normal circundante. (4)

**Amplificación y mutación del gen de MET.** La amplificación del gen de MET con sobreexpresión del receptor en la superficie celular está bien caracterizada así como mutaciones del gen de MET. Esto último conduce en la mayoría de los casos a una forma constitutivamente activa de la molécula (7). Se han identificado amplificaciones de genes de MET en las biopsias obtenidas a partir de NSCLC de pacientes con EGFR mutado, que desarrollaron resistencia clínica a terapias dirigidas contra EGFR (9). También en pacientes con cánceres gástricos y hepáticos (4). Se detectaron niveles variables de amplificación del gen MET dependiendo del método de detección (por ejemplo, hibridación in situ fluorescente [FISH], genotipado del polimorfismo de nucleótido único, qPCR) y los diferentes criterios de puntuación que definen una alta amplificación. En el cáncer gástrico, la prevalencia de la amplificación del gen MET varía de 2 a 23%. (4)

Aunque las mutaciones de MET ocurren rara vez en los cánceres, pueden correlacionarse con el desarrollo del tumor. Alteraciones de la estructura de la proteína, ya sea a través de la promoción de la dimerización del receptor o la alteración de la actividad catalítica, se puede atribuir a un aumento de la actividad quinasa en formas mutantes de MET (4).

**Activación/fosforilación de MET.** La determinación de MET fosforilado (pMET) se ha sugerido como un marcador para la activación de la vía MET. La medición del nivel de pMET representa un enfoque útil y rutinario para demostrar la actividad de MET en estudios *in vitro* utilizando lisados de células / tejidos (9). En las biopsias de pacientes clínicos antes y después del tratamiento, se observaron cambios en la fosforilación de MET y activación de efectores de señalización en respuesta a varios agentes anti-MET. El tratamiento con foretinib, tivantinib o savolitinib condujo a una gran disminución del nivel de fosforilación de MET (14).

Puesto que los tumores sólidos están formados por grupos de células altamente heterogéneos, el uso de inhibidores selectivos puede seleccionar un clon maligno de células, que son inherentemente resistentes al bloqueo de la vía HGF-MET. La resistencia adquirida a la inhibición de HGF / MET en las células cancerosas puede desarrollarse mediante mutaciones puntuales, mediante una amplificación incrementada

de MET o mediante la activación de una vía de señalización compensatoria que puede evitar los efectos de agentes dirigidos. Las estrategias para superar la resistencia al HGF-MET implicarían el tratamiento de múltiples vías compensatorias simultáneamente utilizando agentes multi diana como el cabozantinib (MET, VEGF), crizotinib (MET, ALK) o combinando agentes dirigidos. (7)

Es necesaria una mejor comprensión de las toxicidades asociadas con la inhibición de la vía HGF-MET. La señalización de HGF / MET está implicada en procesos fisiológicos tales como crecimiento / reparación de tejido, hematopoyesis y metabolismo de glucosa. Por lo tanto, es posible esperar signos de toxicidad adicionales como mielosupresión, lesión de la mucosa, complicaciones de cicatrización de heridas o alteraciones en la homeostasis de la glucosa.

## 6. Conclusiones

Recientemente, la vía de señalización de HGF / MET se ha convertido en el centro de atención como un diana terapéutica prometedora tanto en el campo oncológico como para regeneración de tejidos dañados. MET codifica un RTK versátil que participa en muchos procesos fisiológicos, patológicos y biológicos. El eje HGF/MET es frecuentemente desregulado en el cáncer, especialmente en las enfermedades avanzadas o metastásicas y es responsable del crecimiento tumoral, la invasión y la resistencia al tratamiento anticancerígeno. En general, los datos emergentes sitúan al eje de señalización HGF/MET como un ejemplo principal de resistencia.

Los ensayos clínicos de monoterapia con fármacos dirigidos contra MET han mostrado resultados prometedores en términos de eficacia antitumoral y mejora de los resultados clínicos en diversos tipos de tumores.

En el futuro, una estratificación precisa de la población de los pacientes y de las combinaciones racionales de tratamiento basadas en el perfil molecular de los tumores serán fundamentales para el éxito de la terapia dirigida frente a MET en la práctica clínica.

## 7. Bibliografía

1. Segura-Flores, AA; Gálvez-Gastélum, FJ; Álvarez-Rodríguez, A; Armendáriz-Borunda, J. *Hepatocyte growth factor (HGF) and its therapeutic applications*. (Article in Spanish) Rev Gastroenterol Mex 2004 Oct-Dec;69(4):243-50.
2. Martínez Palacián, A. 2012. *Papel de la señalización del TFG-B, HGF y EGF en la regulación de la proliferación, diferenciación y muerte de las células progenitoras adultas hepáticas*. (Tesis doctoral).
3. Suárez Causado, A. 2012. *Papel de la señalización de HGF-MET sobre la migración e invasión de células ovas*. (Tesis doctoral).
4. Zhang, Y.; Du, Z.; Zhang, M.; *Biomarker development in MET-targeted therapy*. Oncotarget. 2016;7(24):37370-37389. doi: 10.18632/oncotarget.8276.
5. Matsumoto, K; Funakoshi, H; Takahashi, H; Sakai, K. *HGF-Met Pathway in Regeneration and Drug Discovery*. Biomedicines 2014, 2(4),275-300; doi:10.3390/biomedicines2040275.
6. You WK.; McDonald, DM (2008); *The hepatocyte growth factor/c-Met signaling pathway as a therapeutic target to inhibit angiogenesis*; [BMB reports 2008; 41(12): 833-839]
7. Garajová et al. *c-Met as a Target for Personalized Therapy*. Translational Oncogenomics 2015;7(S1) 13–31 doi: 10.4137/TOGOG.S30534.
8. Granito, A.; Guidetti, E.; Gramantieri, L.; 2015. *c-MET receptor tyrosine kinase as a molecular target in advanced hepatocellular carcinoma*. J Hepatocell Carcinoma. 2015;2:29-38. doi: 10.2147/JHC.S77038. eCollection 2015.
9. Koeppen, H.; Rost, S.; Yauch, R.; 2014. *Developing biomarkers to predict benefit from HGF/MET pathway inhibitors*. J Pathol. 2014;232(2):210-8. doi: 10.1002/path.4268.
10. Ko B, He T, Gadgeel S, Halmos B. *MET/HGF pathway activation as a paradigm of resistance to targeted therapies*. Ann Transl Med 2017;5(1):4. doi: 10.21037/atm.2016.12.09
11. Hu C, Jiang N, Wang G, et al. *Expression of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 (HAI-1) gene in prostate cancer: clinical and biological significance*. J BUON. 2014;19(1):215–20

12. Kogita A, Togashi Y, Hayashi H, et al. *Activated MET acts as a salvage signal after treatment with alectinib, a selective ALK inhibitor, in ALK-positive non-small cell lung cancer*. Int J Oncol. 2015;46(3):1025–30
13. Ciamporcero E, Miles KM, Adelaiye R, et al. *Combination strategy targeting VEGF and HGF/c-met in human renal cell carcinoma models*. Mol Cancer Ther. 2015;14(1):101–10.
14. Schuller AG, Barry ER, Jones RD, et al. *The MET Inhibitor AZD6094 (Savolitinib, HMPL-504) Induces Regression in Papillary Renal Cell Carcinoma Patient-Derived Xenograft Models*. Clin Cancer Res. 2015;21(12):2811–9.
15. Zhang YW, Staal B, Essenburg C, et al. *MET kinase inhibitor SGX523 synergizes with epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib in a hepatocyte growth factor-dependent fashion to suppress carcinoma growth*. Cancer Res. 2010;70(17):6880–90.
16. Kogita A, Togashi Y, Hayashi H, et al. *Activated MET acts as a salvage signal after treatment with alectinib, a selective ALK inhibitor, in ALK-positive non-small cell lung cancer*. Int J Oncol. 2015;46(3):1025–30.
17. Kentsis A, Reed C, Rice KL, et al. *Autocrine activation of the MET receptor tyrosine kinase in acute myeloid leukemia*. Nat Med. 2012;18(7):1118–22
18. Tarhini AA, Rafique I, Floros T, et al. *Phase 1/2 study of rilotumumab (AMG 102), a hepatocyte growth factor inhibitor, and erlotinib in patients with advanced non-small cell lung cancer*. 2017. doi: 10.1002/cncr.30717.
19. Owosu BY, Bansal N, Venukadasula PKM, et al. *Inhibition of pro-HGF activation by SRI31215, a novel approach to block oncogenic HGF/MET signaling*. Oncotarget. 2016; 7(20): 29492–29506. doi: 10.18632/oncotarget.8785
20. Venepalli NK, Goff L. *Targeting the HGF-cMET Axis in Hepatocellular Carcinoma*. Int J Hepatol. 2013;2013:341636. doi: 10.1155/2013/341636.